



RIVISTA

DI VITICOLTURA
E DI ENOLOGIA

1

2003

RIVISTA

DI VITICOLTURA E DI ENOLOGIA

Trimestrale Scientifico a cura dell'Istituto
Sperimentale per la Viticoltura e
dell'Istituto Sperimentale per l'Enologia

Direzione scientifica

A. Calò
R. Di Stefano

Comitato scientifico

A. Amati
M. Bertuccioli
R. Bessis
M. Borgo
A. Carbonneau
M. Castino
A. Costacurta
V. Cotea
E. Egger
M. Feuillat
M. Fregoni
A. Gandini
A. Garcia De Lujan
F. Iacono
C. Intrieri
C.S. Liuni
C. Lorenzoni
F. Mattivi
C.P. Meredith
C. Miconi
A. Quacquarelli
E. Refatti
K. Schaller
A. Scienza
M. Ubigli
G. Versini
C. Zambonelli

Direzione Editoriale

G. Cappelleri

Direzione e Amministrazione

Via XXVIII Aprile, 26

31015 CONEGLIANO (TV)

Redazione: F. Giacomazzi

Tel. 0438.456711 - Fax 0438.64779

Indagine sul tenore di ammine libere in mosti d'uve di varietà autoctone

Survey of the concentration of free amines in grape juices of native varieties

G. Nicolini, R. Larcher, D. Bertoldi

U.O. Enologia e Chimica Agraria, Dip. Laboratorio di Analisi e Ricerca, Istituto Agrario di San Michele a/A, Via Mach 1, 38010 S. Michele all'Adige (TN), Italia
(ricevuto il 27.01.03, accettato il 20.02.03)

Riassunto

Il contenuto di cadaverina, etilammina, istammina, metilammina, putrescina, tirammina, triptammina e 2-fenilettilammina è stato misurato in uve mature e sane di varietà a bacca rossa (Lagrein, Marzemino, Rebo, Schiava, Teroldego) e bianca (Nosiola) del Trentino. I contenuti medi ($n=35$; media \pm dev.st; $\mu\text{g/L}$) dei campioni analizzati erano: putrescina (1348 ± 793), etilammina (315 ± 279), metilammina (175 ± 149), istammina (129 ± 166) e cadaverina (29 ± 23). La fenilettilammina superava il limite di quantificazione (QL, $20 \mu\text{g/L}$) solo nel 40% dei casi, con massimo a $110 \mu\text{g/L}$, mentre tirammina e triptammina erano a livello di tracce, raramente superiori ai $10 \mu\text{g/L}$. Benché siano state osservate differenze tra varietà per cadaverina, putrescina e metilammina, delle conferme su base pluriennale sembrano comunque opportune. Su altre 53 uve di Enantio, Marzemino, Lagrein, Schiava, Teroldego e Nosiola, sono stati quantificati, senza osservare differenze varietali, i contenuti di fosfoetanolammina (media \pm dev.st: $1.95 \pm 1.32 \text{ mg/L}$) e di etanolammina. Per quest'ultima, il 50 % dei campioni era inferiore al QL (1 mg/L) ed il valore massimo era di 14 mg/L .

Summary

The content of cadaverine, ethylamine, histamine, methylamine, putrescine, tyramine, tryptamine e 2-phenylethylamine was measured in ripe and sound grapes of red- (Lagrein, Marzemino, Rebo, Schiava, Teroldego) and white-fruited (Nosiola) varieties native to Trentino. The mean contents were ($n=35$; $\mu\text{g/L}$): putrescine (1348 ± 793), ethylamine (315 ± 279), methylamine (175 ± 149), histamine (129 ± 166) and cadaverine (29 ± 23). For 2-phenylethylamine, only part of the samples, roughly 40%, was over the quantitation limit (QL; $20 \mu\text{g/L}$), with maximum value of $110 \mu\text{g/L}$. Rarely tyramine and tryptamine were over the QL ($10 \mu\text{g/L}$). The differences observed among varieties for cadaverine, putrescine and methylamine need confirmation based on several vintage years. Other 53 samples of Enantio, Marzemino, Lagrein, Schiava, Teroldego and Nosiola grapes were analysed for the content of phosphoethanolamine and ethanolamine, without observing varietal differences. In the former, the mean concentration was $1.95 \pm 1.32 \text{ mg/L}$, while half of the samples of the latter was under the QL (1 mg/L) and the others ranged from 1 to 14 mg/L .

Parole chiave: ammine, uva, varietà autoctone, Trentino
Key words: amines, grape, native varieties, Trentino

Introduzione

Le ammine biogene, basi organiche a basso peso molecolare, sono prodotti del normale metabolismo di microrganismi, piante ed animali. Lo studio dei contenuti amminici degli alimenti è ritenuto interessante sia per aspetti di natura fisiologico-tossicologica che tecnologica [Radler e Fäth, 1991]. Alcune ammine biogene agiscono infatti sulla pressione sanguigna o sono psicoattive - quest'ultime non presenti nei vini [Radler e Fäth, 1991] - e possono causare intossicazioni alimentari, allergie, emicrania, orticaria, nausea, diarrea ecc. Mentre limitate concentrazioni di diverse ammine sono in genere facilmente metabolizzate dall'uomo, elevate quantità o particolari condizioni momentanee della persona (uso di farmaci inibitori delle monoammino ossidasi, interazione con altri composti come l'etanolo [Bauza et al., 1995a]) o vie di assunzione (ad es. intravenosa) possono determinare problemi di salute di differente entità [Radler e Fäth, 1991]. La presenza di ammine in quantità significativa nei cibi è comunque correlata alla presenza di diverse specie batteriche [Bover-Cid e Holfapfel, 2000], e considerata in genere indicatrice di condizioni igienico-sanitarie di produzione e conservazione non ottimali. Per questa ragione le ammine, cui si presta sicuramente maggior attenzione in prodotti più "a rischio" quali quelli dei settori lattiero-caseario ed ittico, sono state indagate anche nel vino e discusse con una certa frequenza [Ough, 1971 e letteratura ivi citata; Zee et al. 1983 e letteratura ivi citata; Cilliers e van Wyk, 1985; Mayer e Pause, 1985; Cerutti et al., 1986; Baucom et al., 1986; Yen e Chandra, 1988; Vecchio et al., 1989; Rapp, 1989; Lethonen, 1996; Bauza et al. 1995b, 1995c; Gloria et al. 1998; Mafra et al., 1999]. Questo, anche in relazione al fatto che in diversi Stati sono stati definiti limiti massimi raccomandati per i contenuti, in particolare, di istamina, con l'insorgenza anche di qualche problema nelle transazioni commerciali [Busto et al., 1996].

Come normali costituenti dell'uva [Ough et al. 1981; Ough and Daudt 1981; Vidal-Carou et al. 1990; Hajos et al. 2000], varie ammine sono presenti nel mosto in basse concentrazioni, destinate a crescere o a diminuire nel passaggio da mosto a vino [Ough and Daudt 1981; Desser et al., 1981; Vidal-Carou et al. 1990; Bauza et al., 1995b; Hajos et al. 2000] in relazione ai metabolismi nei quali sono coinvolte da parte dei microrganismi che conducono le fermentazioni. Le ammine infatti sono sì prodotti del catabolismo aminoacidico, ma ricoprono per i microrganismi anche funzioni di riserva azotata e costituiscono fattori di crescita. Lieviti non-Saccharomyces sono in grado di produrre istamina in quantità significativa, mentre Saccharomyces sembra non produrne [Mayer e Pause, 1971 in Radler e Fäth; 1991; Bravo Abad e Garcia Gomez, 1987 in Radler e Fäth; 1991]; quantità significative di diverse ammine sono invece sintetizzate da lattobacilli e pediococchi a partire dagli amminoacidi precursori [ten Brink et al., 1990; Radler e Fäth; 1991]. Le vie metaboliche prevedono decarbossilazioni di aminoacidi, aminazioni di aldeidi

e chetoni, e transaminazioni con formazione di aldeidi. Differenze notevoli nella produzione di istamina sono state osservate tra ceppi delle più comuni specie di batteri lattici presenti nei vini ed in relazione alle condizioni di crescita [Lafon-Lafourcade, 1975]. Bover-Cid e Holfapfel, [2000], Kunsch et al., [1975; in Buteau et al., 1984] e Delfini [1989] non hanno potuto annoverare *Leuconostoc oenos* (*Oenococcus oeni*) tra i produttori di istamina, ma studi più recenti hanno precisato il ruolo della attività decarbossilasica di *Oenococcus oeni* confermando l'esistenza di differenze tra ceppi della stessa specie [Farias et al., 1993; Lonvaud-Funel e Joyeux, 1994; Coton, 1996; Coton et al., 1999].

Nei vini, il contenuto amminico è stato messo in relazione non solo alla presenza batterica, ritenuta fattore principale, ma anche alla dotazione aminoacidica (con correlazioni di cadaverina e agmatina con i rispettivi aminoacidi precursori lisina ed arginina [Simon-Sarkadi, 2000]), alla concimazione azotata dei terreni di origine delle uve, alla varietà, all'inoculo di lieviti selezionati ed alla durata delle fermentazioni ecc. [Buteau et al., 1984; Bauza et al. 1995c; Soleas et al., 1999]. Alcuni autori [Baucom et al., 1986] hanno osservato differenze significative tra vini di aree di coltivazione diverse, tuttavia, avendo analizzato vini commerciali ottenuti con livelli di maturazione delle uve e tecniche di vinificazione differenti ecc., non si sentivano di attribuire con certezza le differenze osservate esclusivamente ad un "effetto zona". In senso generale si può comunque ritenere che tutti quei fattori che favoriscono la presenza di lieviti non-*Saccharomyces* e lo sviluppo notevole e precoce di batteri lattici, rallentando i normali decorsi fermentativi, possano contribuire ad aumentare il contenuto di numerose ammine nei vini (ad es. istamina, cadaverina, putrescina, tiramina). La formazione di alcune ammine sembra essere infatti influenzata da fattori comuni, poiché sono state rilevate correlazioni positive tra i contenuti, ad esempio, di istamina con quelli di tiramina, etilamina e putrescina, nonché della feniletilamina con l'isoamilamina; altre correlazioni positive e significative sono state osservate anche tra feniletilamina ed agmatina, tra istamina e spermidina, nonché tra putrescina e cadaverina [Mayer e Pause, 1985; Bauza et al. 1995c; Gloria et al. 1998; Soufleros et al. 1998].

Nelle uve, come precedentemente accennato, diverse ammine sono presenti solitamente in basse concentrazioni ed al loro studio è annessa notevole importanza [Boulton et al., 1995]. In genere, spermidina e putrescina sono le più abbondanti. I contenuti riportati in bibliografia per i mosti sono riassunti in Tab. 1, nella quale i dati originari sono stati convertiti in un'unica unità di misura per comodità di comparazione. Circa l'agmatina non si è riusciti a trovare lavori che riportino una sua quantificazione nei mosti, benché talvolta tale ammina sia citata tra quelle presenti nei mosti stessi [Sponholz, 1991] e sia destinata a crescere durante la fermentazione alcolica - Buteau et al., [1984] riportano concentrazioni di 3 $\mu\text{mol/l}$ a fine alcolica - con minori variazioni durante la fermentazione malolattica. Ulteriori dati sul contenuto amminico delle uve sono forniti da Broquedis et al. [1989], i quali, analizzando i pericarpi di Ugni Blanc e Cabernet, hanno trovato rispettivamente concentrazioni per la putrescina di 159 e 210 nmoli/g di peso secco (PS), per la cadaverina di 41 e 0 nmoli/g PS, per la *nor*-spermidina di 63 e 22 nmoli/g PS, per la spermidina di 350 e 428 nmoli/g PS e per la spermina di 16 e 36 nmoli/g PS.

Tab. 1: Intervallo dei contenuti di ammine in uve e mosti riportati in letteratura. I valori originari sono stati ricalcolati ed espressi in $\mu\text{g/L}$ (*=succo d'uva; tr.=tracce).

Tab. 1: Range of the contents of amines reported in literature for grape and juices (recalculated to be expressed as $\mu\text{g/L}$) (*=fruit juice; tr.=trace).

n° campioni / n° of sample	1	38-40	4	4	5	3	6	—
1,3 diamminopropano / 1,3-diaminopropane		tr.-30						
alfa-amilammina / alpha-amylamine			3					
cadaverina / cadaverine		tr.-614		0		70-160		
dietilammina / diethylamine			30-205					
dimetilammina / dimethylamine			25-75					
etanolammina / ethanolamine	2000			2443				
etilammina / ethylamine			80-4900				<100-320	
2-feniletilammina / 2-phenylethylamine			4-200				<100-1040	
iso-amilammina / iso-amylamine	1000		12.5-700				<100-1180	
iso-butilammina / iso-butylamine								
istammina / histamine		tr.-110			0-750	20-40		
metilammina / methylamine			145-1000				280-470	
n-propilammina / propylamine			<1					
putrescina / putrescine		366-5684		0		620-820	1160-3480	tr.-3000
spermidina / spermidine		905-12259				5230-12510		300-2200
spermina / spermine		61-852						100-200
tirammina / tyramine				480	0-350	40-110		

Se il contenuto amminico dei vini è condizionato principalmente da fattori microbiologici e di tecnica enologica, quello delle uve è invece condizionato da fattori di fisiologia della pianta e fitopatologici. Come ricordano Darrieumerlou et al., [2001] riferendosi a precedenti lavori in letteratura, le poliammine libere si accumulano in modo importante nelle cellule vegetali durante le fasi di forte crescita mentre quelle legate aumentano specialmente in seguito a situazioni di stress. Adams et al., [1990] hanno osservato che viti soggette a deficienza da potassio accumulano maggiori livelli di poliammine nelle foglie. La presenza di *Botrytis cinerea* è risultata essere un importante fattore perturbativo del contenuto amminico fin dai primi stadi dell'attacco fungino. Sono stati osservati [Darrieumerlou et al., 2001], infatti, significativi incrementi nella bacca sia di poliammine libere, specialmente putrescina, che di poliammine legate a macromolecole, in particolar modo diamminopropano e putrescina, mentre le variazioni di poliammine legate a micromolecole sembrano essere di minor entità, pur se nella stessa direzione. Gli stessi autori hanno avanzato l'ipotesi che la gran parte delle poliammine libere misurabili nelle bacche infettate dal fungo siano essenzialmente di origine fungina e che il forte tenore di poliammine legate sia verosimilmente il risultato della risposta di difesa della pianta.

A fronte di una bibliografia relativa ai contenuti di ammine nelle uve non particolarmente ampia, il presente lavoro si è posto l'obiettivo di indagare, su varietà autoctone del Trentino-Alto Adige, i contenuti di alcune ammine presenti in mosti da uve raccolte a maturazione tecnologica.

Materiali e metodi

Campioni di 10 grappoli di uve a bacca rossa (r) e bianca (b) delle varietà Lagrein (r; n = 6), Marzemino (r; n = 6.), Nosiola (b; n = 6), Rebo (r; n = 5; incrocio Merlot x Teroldego), Schiava (r; n = 6) e Teroldego (r; n = 6) sono stati raccolti a maturazione tecnologica da vigneti localizzati nelle aree di coltivazione più tipiche per ciascuna varietà in Trentino. Le date di raccolta hanno coinciso con quelle previste dai piani di conferimento delle Cantine Sociali dai cui appezzamenti sono stati raccolti i campioni, in qualche caso anticipandole di un massimo di 4 giorni.

Preparazione del campione

Le uve, raccolte visivamente sane, sono state pressate a 2.5 bar (Para Press - Paul Arauner G.m.b.H., Wörthstrasse 34/36, D-97306 Kitzingen/Main) ed il mosto torbido è stato immediatamente frazionato in due lotti. Di questi, uno è stato immediatamente analizzato per la sua composizione di base, valutando °Brix (rifrattometro RFM81, BS Precision Instruments, Bellingham & Stanley Ltd., Tunbridge Wells, Kent TN 2 3EY), pH ed acidità totale (g/L come acido tartarico; Compact III, CRI-SON INSTRUMENTS S.A., Alella, Barcelona, Spagna). Il secondo lotto è stato immediatamente congelato fino all'analisi delle ammine, eseguita dopo qualche giorno. Dopo scongelamento, il mosto è stato portato a pH 7.5 con una soluzione

concentrata di NaOH e filtrato a 0.45 μm su cartuccia-filtro in acetato di cellulosa; trasferito in fiala di vetro, è stato quindi sottoposto a derivatizzazione automatica. La soluzione derivatizzante è stata preparata a partire da 45 mg di OPA (Fluka Chemie AG, Buchs, Svizzera), 200 μL di 2-mercaptoetanolo (Fluka Chemie AG, Buchs, Svizzera) e 1 mL di metanolo (Carlo Erba, Milano, Italia), portando ad un volume finale di 10 mL con una soluzione tampone a pH 10.5 di sodio tetraborato decaidrato 0.1 M (Carlo Erba, Milano, Italia) [Busto et al. 1995]. 30 μL di tale soluzione sono stati miscelati con 30 μL di campione ed iniettati dopo un'attesa di 1 minuto, previa pulizia dell'ago e del loop con metanolo.

Strumentazione e analisi

L'analisi cromatografica è stata realizzata su HPLC 1100 Agilent (Hewlett-Packard, Germany) provvisto di degasatore-filtratore G1322A; autocampionatore G1313 A, pompa G1311 A-94003; reparto colonna G1316 A; detector diode-array G1315-94004; detector fluorimetrico G1321-90000. Lo strumento era gestito dal software Agilent Chem Station versione Rev. A.08.03.

Sono stati utilizzati i seguenti standard in forma di sali cloridrati (Fluka Chemie AG, CH-9471 Buchs): cadaverina (cod. 33220), etilammina (cod. 02960), 2-fenilettilammina (cod. 77905), istammina (cod. 53300), metilammina (cod. 65600), putrescina (cod. 32810), tirammina (cod. 93820). Lo standard di triptammina (HCl (cod. 24,655-7) era della Aldrich (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Kappelweg 1, 91625 Schnellendorf, Germany). Le soluzioni di taratura sono state preparate in soluzione simil-mosto (acido tartarico, 6 g/L; acido malico, 4 g/L; KCl, 2 g/L; fruttosio, 75 g/L; glucosio, 75 g/L) ed aggiustate a pH 7.5. L'analisi è stata condotta su colonna ZORBAX SB-Aq 4.6 x 150 mm; 5 μm (Agilent technologies). La separazione è stata realizzata in gradiente (Tab. 2) utilizzando, con flusso di 1 mL/min e temperatura della colonna a 40°C, le seguenti soluzioni di eluizione: (A) tampone sodio acetato 0.05 M; tetraidrofurano; 96:4 v/v; (B) metanolo.

Lo spettrofluorimetro è stato impostato con lunghezze d'onda di eccitazione ed emissione rispettivamente di 336 nm e 445 nm. Le misure sono state ripetute in tri-

Tab. 2: Schema del gradiente di eluizione.

Tab. 2: *Scheme of the elution gradient.*

min	soluz. A %
0	80
1	65
8.5	50
11	45
18.5	20
19.5	0
22.8	0
24	80
24.5	80

Tab. 3: Recuperi medi percentuali (R%) per ammina.

Tab. 3: *Mean recoveries (R%) per amine.*

composto / compound	R%
cadaverina / cadaverine	74
etilammina / ethylamine	84
2-fenilettilammina / 2-phenylethylamine	70
istammina / histamine	76
metilammina / methylamine	94
putrescina / putrescine	76
tirammina / tyramine	73
triptamina / tryptamine	60

plo ed i valori corretti in funzione dei recuperi misurati per ogni singola varietà secondo il metodo dell'aggiunta nota di standard a mosti naturali portati a pH 7.5. I recuperi medi per ammina sono riportati in Tab. 3. Il limite di quantificazione (QL) è stato calcolato come 10 volte la deviazione standard di 10 ripetizioni.

Elaborazione statistica dei dati

È stata realizzata con il software STATISTICATM per Windows, v. 5.1, 1997 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA). Nei box plot, detto H l'intervallo tra il 25° ed il 75° percentile, sono definiti "outlier" quei campioni per i quali i contenuti di quella ammina sono al di sotto del 25° percentile o al di sopra del 75° percentile di 1.5 volte il valore di H. Analogamente, sono definiti "estremi" i campioni rispetto a 3 volte il valore di H.

Risultati e discussione

La metodica utilizzata ha consentito di quantificare otto ammine libere, specificatamente: cadaverina, etilammina, istammina, metilammina, putrescina, tirammina e triptamina, tutte con limite di quantificazione (QL) di 10 µg/L, e fenilettilammina, con QL 20 µg/L.

I box plots di Fig. 1 e Fig. 2 presentano la distribuzione dei contenuti di 5 ammine. I contenuti (media ± dev.st; mediana, min.; max.) delle singole ammine nei 35 mosti analizzati - espressi in µg/L e presentati in ordine di concentrazione decrescente - erano i seguenti: putrescina (1348 ± 793; 1144; 353; 3385), etilammina (315 ± 279; 225; 32; 1163), metilammina (175 ± 149; 123; 36; 740), istammina (129 ± 166; 62; 28; 916) e cadaverina (29 ± 23; 24; tr.; 112). Per quest'ultima ammina, tre dei 35 campioni avevano contenuti inferiori al QL; per omogeneità di presentazione grafica i valori strumentali ottenuti sono stati comunque tenuti in conto. Relativamente a fenilettilammina, tirammina e triptamina, solo un numero ridotto dei campioni analizzati presentava contenuti sufficientemente elevati da

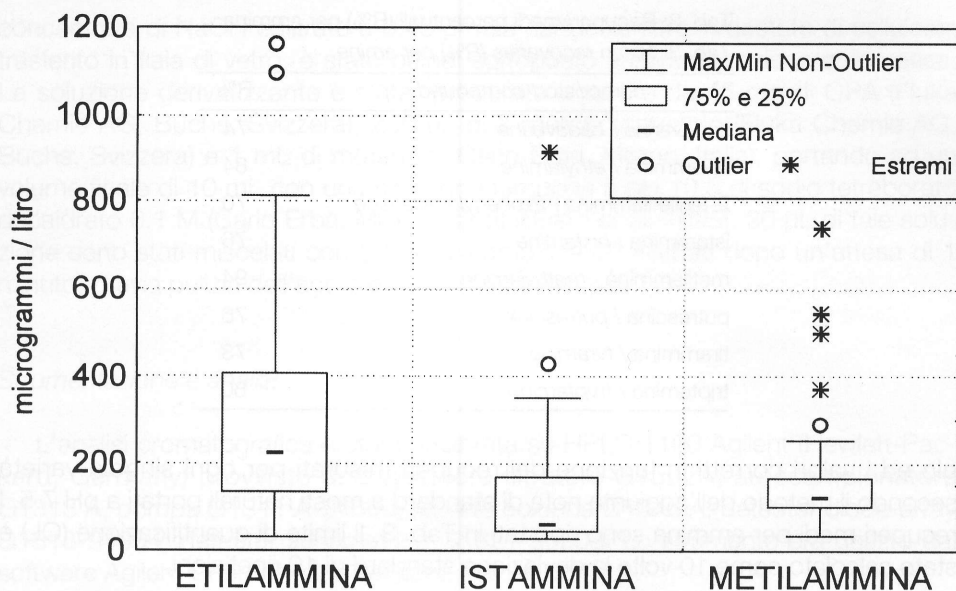


Fig. 1: Distribuzione dei contenuti di etilammina, istammina e metilammina nei mosti (n = 35).

Fig 1: Distribution of the concentration ($\mu\text{g/L}$) of ethylamine, histamine and methylamine in the juices (n = 35).

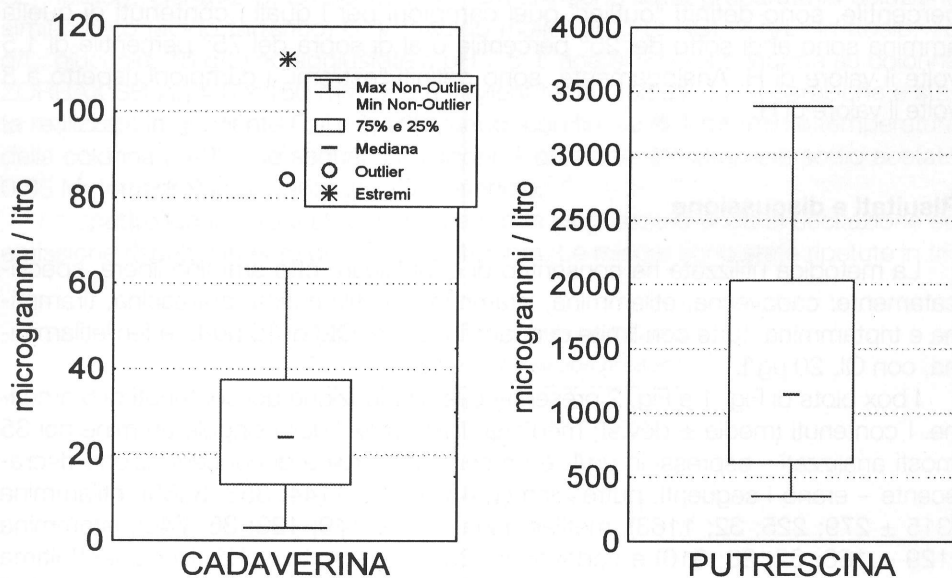


Fig. 2: Distribuzione dei contenuti di cadaverina e putrescina nei mosti (n = 35).

Fig 2: Distribution of the concentration ($\mu\text{g/L}$) of ethylamine, histamine and methylamine in the juices (n = 35).

essere correttamente quantificabili. Per la feniletilammina, solamente il 40 % ca. dei campioni era al di sopra del QL (20 µg/L); questi si collocavano omogeneamente nell'intervallo tra i 20 ed i 72 µg/L, con un campione a 110 µg/L. Per la tirammina, solo tre campioni di Teroldego - con 20, 22 e 25 µg/L - ed uno di Lagrein (12 µg/L) superavano il QL, mentre per la triptamina, un solo campione - un Teroldego con 17 µg/L - era a concentrazioni adeguate per una quantificazione. I dati osservati sono in accordo con quelli, ricoprenti intervalli di concentrazione abbastanza ampi, riportati in bibliografia (Tab. 1) [Desser et al., 1981; Ough and Daut, 1981; Vidal-Carou et al., 1990; Hajos et al., 2000].

Come già osservato da altri ricercatori [Mayer e Pause, 1985; Bauza et al. 1995c; Gloria et al. 1998; Soufleros et al. 1998], tra i contenuti di diverse ammine nei vini si riscontrano correlazioni di segno positivo. I dati della presente ricerca (Tab. 4) hanno mostrato l'esistenza di correlazioni significative e positive, anche tra i mosti, benché i valori dei coefficienti "r" siano risultati comunque piuttosto bassi. Solo la cadaverina ha mostrato di essere correlata con i parametri compositivi di base dei mosti, specificatamente con il °Brix ($r=0.358$; $p=0.035$).

Valutando i dati su base varietale, dalla Tab. 5 relativa ai parametri di base si può osservare come i campioni delle varietà Rebo e Teroldego manifestassero un più elevato grado di maturazione, quelli della varietà tipica della Piana Rotaliana avendo anche una più elevata acidità. Relativamente alle ammine, tra i mosti varietali sono state osservate differenze statisticamente significative - valutate con l'Honest Significant Difference test di Tuckey per campioni di diseguale numerosità - solo per quanto riguarda i contenuti di putrescina, metilammina e cadaverina (Tab. 6). Lagrein aveva contenuti di putrescina significativamente maggiori della Nosiola; Teroldego era significativamente più ricco in metilammina rispetto a Lagrein, Rebo, Nosiola e Schiava, ed era inoltre più ricco in cadaverina della Schiava.

Tab. 4: Coefficienti di correlazione, e relativa significatività (p), tra i contenuti (µg/L) di ammine in 35 mosti monovarietali.

Tab. 4: Correlation coefficients, and relevant significance (p), of the contents (µg/L) of amines in 35 grape juices.

	CAD	ETA	HST	MTA	PUT
CAD	1.00				
ETA	0.509 $p=.002$	1.00			
HST	0.525 $p=.001$	0.531 $p=.001$	1.00		
ETA	0.694 $p=.000$	0.690 $p=.000$	0.491 $p=.003$	1.00	
PUT	0.406 $p=.016$	0.404 $p=.016$	0.163 $p=.349$	0.175 $p=.315$	1.00

[Legenda: CAD = cadaverina / cadaverine; ETA = etilammina / ethylamine; HST = istamina / histamine; MTA = metilammina / methylamine; PUT = putrescina / putrescine].

Tab. 5: Composizione di base dei mosti monovarietali.

Tab. 5: *Basic composition of the variety juices.*

	°Brix		Acidità totale (g/L) Total acidity (g/L)		pH	
	media / mean	sign.	media / mean	sign.	media / mean	sign.
Lagrein	19.3 ± 1.3	ab	9.71 ± 1.84	ab	3.25 ± 0.07	ab
Marzemino	19.5 ± 0.8	ab	7.19 ± 1.43	b	3.39 ± 0.16	a
Nosiola	16.8 ± 1.4	c	8.67 ± 1.81	ab	3.11 ± 0.09	bc
Rebo	21.4 ± 1.7	a	7.04 ± 0.91	b	3.34 ± 0.05	a
Schiava	17.6 ± 0.6	bc	8.73 ± 1.12	ab	3.22 ± 0.12	ab
Teroldego	20.8 ± 1.2	a	10.69 ± 1.53	a	3.03 ± 0.05	c

[Legenda: Valori dei parametri analitici contraddistinti della stessa lettera minuscola non sono tra loro significativamente differenti / *Analytical values with the same letter do not differ significantly*].

Utilizzando i dati medi varietali dei singoli aminoacidi riportati in bibliografia per le varietà Teroldego, Schiava, Lagrein, Marzemino e Nosiola [Nicolini et al., 2001a, 2001b], si è provato a verificare l'esistenza di possibili correlazioni tra le ammine misurate nel presente lavoro ed i relativi aminoacidi potenzialmente precursori, pur consci del fatto che si mettevano in correlazione ammine ed aminoacidi relativi ad anni di vendemmia differenti. Limitandosi alle tre ammine per le quali si erano osservate differenze statisticamente significative tra le varietà, è stata osservata una correlazione, positiva e significativa, solamente tra i contenuti medi varietali di metilammina e glicina (Fig. 3). Non è stata invece trovata alcuna correlazione significativa tra cadaverina e lisina, e tra putrescina ed arginina da sola o sommata ad ornitina e citrullina. I contenuti medi registrati nei mosti di Teroldego per metilammina, istammina, cadaverina e etilammina erano comunque i più elevati tra quelli delle sopra citate 5 varietà, analogamente a quanto ricavabile dalla letteratura per i rispettivi aminoacidi precursori glicina, istidina, lisina e serina [Nicolini et al., 2001a].

Su differenti mosti di Enantio (n=9), Marzemino (n=10), Lagrein (n=8), Nosiola (n=11), Schiava (n=9) e Teroldego (n=6), in precedenti esperienze erano stati quantificati i contenuti di altre due ammine, la fosfoetanolammina e l'etanolammina, utilizzando una metodica per cromatografia di scambio ionico già riportata [Nicolini et al., 2001b]. La distribuzione dei contenuti di tali ammine nei mosti delle 6 varietà autoctone trentine è riportata in Fig. 4, realizzata ponendo uguale a zero per esigenze grafiche i contenuti dei campioni inferiori al QL. Per la fosfoetanolammina, solamente 4 campioni dei 53 analizzati erano al di sotto del QL (0.5 mg/L); la media era di 1.95 ± 1.32 mg/L, con massimo a 6.60 mg/L. Per l'etanolammina, invece ben 27 campioni erano al di sotto del QL (1 mg/L), gli altri collocandosi entro gli 8 mg/L, con l'eccezione di due campioni a ca. 11 e 14 mg/L. Non sono state osservate differenze statisticamente significative tra le 6 varietà autoctone.

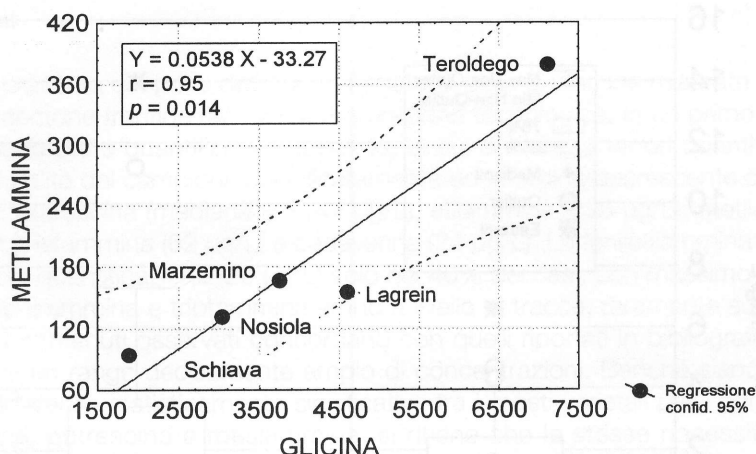


Fig. 3: Correlazione tra i contenuti medi di metilammina osservati per varietà nel presente lavoro e quelli della glicina ripresi dalla bibliografia [Nicolini et al., 2001a, 2001b].

Fig 3: Correlation between the mean concentration of methylamine measured for the varietal juices of the present work and the mean concentration of glycine reported, for other vintage years, in literature [Nicolini et al., 2001a, 2001b].

Tab. 6: Concentrazione (µg/L) di ammine nei mosti monovarietali.

Tab. 6: Concentration (µg/L) of amines in monovariety juices.

Varietà variety	Putrescina putrescine			Etilammina etylamine			Metilammina methylamine			Istammina histamine			Cadaverina cadaverine		
	Media mean	Dev. st. st. dev.	sign.	Media mean	Dev. st. st. dev.	sign.	Media mean	Dev. st. st. dev.	sign.	Media mean	Dev. st. st. dev.	sign.	Media mean	Dev. st. st. dev.	sign.
Lagrein	2137	769	a	209	76	n.s.	156	75	b	91	43	n.s.	28	9	ab
Marzemino	1201	812	ab	347	147	n.s.	168	106	ab	251	116	n.s.	37	19	ab
Nosiola	618	218	b	190	161	n.s.	132	34	b	65	47	n.s.	15	12	ab
Rebo	1022	551	ab	115	59	n.s.	113	37	b	49	18	n.s.	37	12	ab
Schiava	1714	696	ab	415	276	n.s.	95	44	b	45	13	n.s.	12	6	b
Teroldego	1339	758	ab	582	475	n.s.	379	256	a	258	331	n.s.	48	40	a

[Legenda: Valori di ammine contraddistinti dalla stessa lettera minuscola non sono tra loro significativamente differenti / Analytical values with the same letter do not differ significantly].

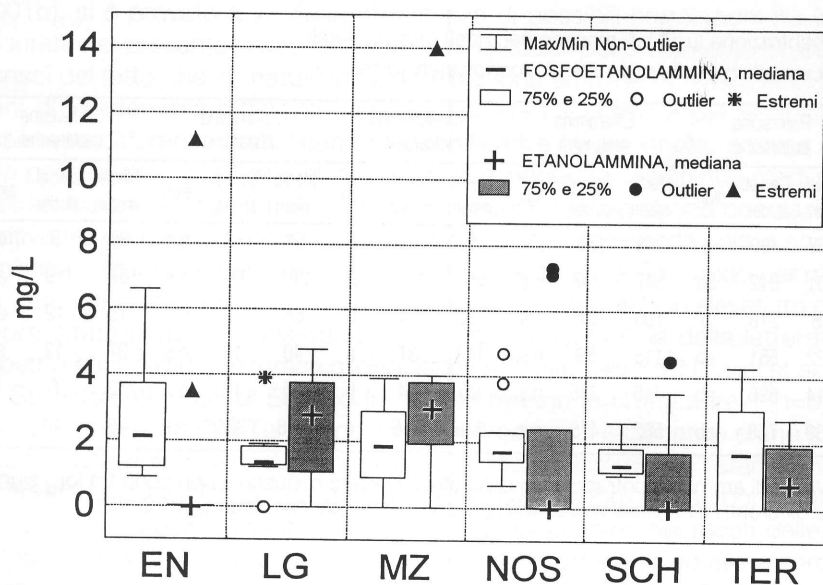
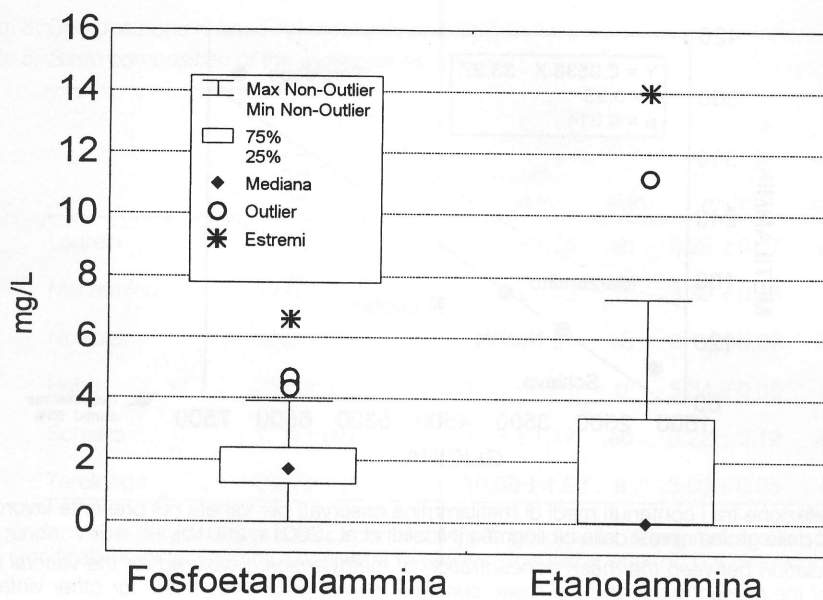


Fig. 4: Distribuzione dei contenuti di fosfoetanolamina ed etanolamina in mosti di varietà autoctone trentine [Nicolini et al., 2001b]. In alto i dati relativi alla totalità dei campioni, in basso i dati distinti per varietà.

Fig 4: Distribution of the concentration of phosphoethanolamine and ethanolamine in juices of varieties native to Trentino. Data expressed for all the available samples (up) and per variety (down). [details in Nicolini et al. 2001b].

Conclusioni

Il lavoro presenta dei primi dati sul contenuto di alcune ammine misurate in uve di varietà autoctone trentine raccolte a maturazione tecnologica. In un primo gruppo di uve sono state quantificate 8 ammine, di cui 5 erano a tenori quantificabili nella quasi totalità dei campioni; specificatamente ed in ordine decrescente di concentrazione: putrescina (mediana = 1144 µg/L), etilammina (225 µg/L), metilammina (123 µg/L), istammina (62 µg/L) e cadaverina (24 µg/L). La feniletilammina superava il limite di quantificazione (20 µg/L) solo nel 40% dei casi, con massimo a 110 µg/L, mentre tirammina e triptammina erano a livello di tracce, raramente superiori ai 10 µg/L. I contenuti osservati concordano con quelli riportati in bibliografia, per altro coprenti un range decisamente ampio di concentrazioni. Benché siano state osservate differenze statisticamente significative tra i mosti varietali per i contenuti di cadaverina, putrescina e metilammina, si ritiene che le stesse necessitino di essere confermate su base pluriennale. L'analisi discriminante standard basata sul contenuto delle citate 8 ammine non ha fornito risultati particolarmente interessanti in termini di discriminazione varietale, non riuscendo a riattribuire correttamente alla varietà di appartenenza mai più dell'83% dei campioni di nessuna varietà.

Nessuna differenza significativa su base varietale è stata osservata su un diverso gruppo di campioni di varietà autoctone trentine per quanto riguarda i contenuti di fosfoetanolammina ed etanolammina misurate con una metodica diversa rispetto a quella utilizzata per le precedenti ammine. La fosfoetanolammina era mediamente attorno ai 2 mg/L, mentre l'etanolammina superava il QL (1 mg/L) solo in ca. il 50% dei campioni, essendo nell'ordine di qualche mg/L.

Ringraziamenti

Si ringrazia la Provincia Autonoma di Trento e il Consiglio Nazionale delle Ricerche, progetto 2 "Analisi e ricerche per il sistema agroindustriale" per il supporto finanziario.

Bibliografia

1. ADAMS D.O., FRANKE K.E., CHRISTENSEN L.P. (1990). *Elevated Putrescine Levels in Grapevine Leaves. That Display Symptoms of Potassium Deficiency*. Am. J. Enol. Vitic., (41,2):121-125.
2. BAUCOM T.L., TABACCHI M.H., COTTRELL T.H.E., RICHMOND B.S. (1986). *Biogenic amine content of New York State wines*. J. Food Sci., (51,5):1376-1377.
3. BAUZA T., BLAISE A., MESTRES J.P., TEISSEDRE P.L., DAUMAS F., CABANIS J.C. (1995c). *Teneurs en amines biogènes et facteurs de leurs variations dans les vins des côtes du Rhône, de la vallée du Rhône et de Provence*. Sci. Aliments, (15,4):367-380.
4. BAUZA T., BLAISE A., TEISSEDRE P.L., CABANIS J.C., KANNY G., MONERET-VAUTRIN D.A. (1995a). *Les amines biogènes du vin. Métabolisme et toxicité*. Bull. OIV. (767-768): 42-67.
5. BAUZA T., BLAISE A., TEISSEDRE P.L., MESTRES J.P., DAUMAS F., CABANIS J.C. (1995b). *Évolution des teneurs en amines biogènes des moûts et des vins au cours de la vinification*. Sci. Aliments, (15,6):559-570.
6. BOULTON R.B., SINGLETON V., BISSON L.F., KUNKEE R. (Eds.), (1995). *Principles and Practices of Winemaking*, p. 51-52. Chapman & Hall, NY.
7. BOVER-CID S., HOLZAPFEL W. (2000). *Biogenic amine production by bacteria*. In: COST 917: Biogenically active amines in food. D.M.L. Morgan, A. White, F. Sanchez-Jimenez, S. Bardocz, Eds.; Proc. First general workshop, Vol. IV, Publication of the European Communities, EUR 19241 EN; ISBN 92-828-8730-8; pp. 21-29.
8. BROQUEDIS M., DUMERY B., BOUARD J. (1989). *Mise en évidence de polyamines (putrescine, cadaverine, nor-spermidine, spermidine et spermine) dans les feuilles et les grappes de Vitis vinifera*. L. J. Int. Sci. Vigne Vin, (23,1):1-6.
9. BUSTO O., GUASCH J., BORRUI F. (1996). *Biogenic amines in wine: A review of analytical methods*. J. Int. Sci. Vigne Vin (30,2):85-101.
10. BUSTO O., MESTRES M., GUASCH J., BORRUL F. (1995). *Determination of Biogenic Amines in Wine After Clean-Up by Solid-Phase Extraction*. Chromatographya, (40,7/8):404-410.
11. BUTEAU C., DUTSCHAEVER C.L., ASHTON G.C. (1984). *A Study of the Biogenesis of Amines in a Villard Noir Wine*. Am. J. Enol. Vitic., (35,4):228-236.
12. CABANIS J.C., CABANIS M.T. (1998). *Azote. Composés azotés*. In: "Oenologie. Fondements scientifiques et technologiques", pp. 320-321. C. Flanzy Ed., TEC&DOC, Paris.
13. CERUTTI G., CASSA W., FINOLI C., VECCHIO A. (1986). *Ammine biogene nel vino*. (13,12):35-38.
14. CILLIERS J.D., VAN WYK C.J. (1985). *Histamine and tyramine content of South African wine*. S. Afr. J. Enol. Vitic., (6,2):35-40.
15. COTON E. (1996). *Étude de l'histidine décarboxylase de Leuconostoc oenos (Oenococcus oeni)*. Tesi Dottorato Fac. Enologia, Univ. Bordeaux 2.
16. COTON E., TORLOIS S., BERTRAND A., LONVAUD-FUNEL A. (1999). *Amines biogènes et bactéries lactique du vin*. Bull. OIV, (72, 815-816):23-35.
17. DARRIEUMERLOU A., GENY L., BROQUEDIS M., DONÉCHE B. (2001). *Evolution de la composition en polyamines des baies de raisin au cours du processus d'infection par Botrytis cinerea*. Vitis, (40,1):11-15.
18. DELFINI C. (1989). *Ability of wine malolactic bacteria to produce histamine*. Sci. Aliments, (9):413-416.
19. DESSER H., BANDION F., KLARING W. (1981). *Zur Kenntnis einiger biogener Amine des Traubenmostes und Traubenweines*. Mitt. Klosterneuburg, (31):231-237.
20. FARIAS M.E., MANCA DE NADRA M.C., ROLLAN G.C., STRASSER DE SAAD A.M. (1993). *Histidine decarboxylase activity in lactic acid bacteria from wine*. J. Int. Sci. Vigne Vin, (27,3):191-199.
21. GLORIA M.B.A., WATSON B.T., SIMON-SARKADI L., DAESCHEL M.A. (1998). *A Survey of Biogenic Amines in Oregon Pinot Noir and Cabernet Sauvignon Wines*. Am. J. Enol. Vitic., (49,3):279-282.
22. HAJOS GY., SASS-KISS A., SZERDAHELYI E., BARDOCH S. (2000). *Changes in Biogenic*

- Amine Content of Tokaj Grapes, Wines, and Aszu-wines.* J. Food Sci: Food Chem. Toxicol., (65,7), 1142-1144.
23. LAFON-LAFOURCADE S., (1975). *L'histamine des vins.* Conn. Vigne Vin, (2): 103-115.
 24. LEHTONEN P. (1996). *Determination of Amines and Amino Acids in Wine. A Review.* Am. J. Enol. Vitic. (47,2):127-133.
 25. LONVAUD-FUNEL A., JOYEUX A. (1994). *Histamine production by wine lactic acid bacteria. Isolation of a histamine producing strain of Leuconostoc oenos.* J. Appl. Bacteriol., (77): 401-407.
 26. MAFRA I., HERBERT P., SANTOS L., BARROS P., ALVES A. (1999). *Evaluation of Biogenic Amines in Some Portuguese Quality Wines by HPLC Fluorescence Detection of OPA Derivatives.* Am. J. Enol. Vitic. (50,1):128-132.
 27. MAXA E., BRANDES W. (1993). *Biogene Amine in Fruchtsäften.* Mitt. Klosterneuburg (43):101-106.
 28. MAYER K., PAUSE G. (1973). *Nicht-flüchtige biogene Amine in Wein.* Mitt. Geb. Lebensmitteluntersuch. Hyg. (64):171-179.
 29. MAYER K., PAUSE G. (1985). *Amingehalte in Ostschweizer Weinen.* Schweiz. Z. Obst-u. Weinb. (121):303-309.
 30. NICOLINI G., LARCHER R., RAMPONI M. (2001a). *Contenuto di ammonio e profilo aminoacidico di mosti varietali dell'annata 1999.* L'Enologo, (37,3):79-87.
 31. NICOLINI G., LARCHER R., RAMPONI M. (2001b). *Free amino acids profile of juices of 12 grape varieties grown in Trentino (Italy).* Ital. J. Food Sci. (13,2):189-199.
 32. OUGH C.S., DAUDT C.E. (1981). *Quantitative determination of volatile amines in grapes and wines. I. Effect of fermentation and storage temperature on amine concentrations.* Am. J. Enol. Vitic. (32,3):185-188.
 33. OUGH C.S., DAUDT C.E., CROWEL E.A. (1981). *Identification of New Volatile Amines in Grapes and Wines.* J. Agric. Food Chem. (29):938-941.
 34. OUGH S.C. (1971). *Measurement of Histamine in California Wines.* J. Agric. Food Chem., (19,2):241-244.
 35. RADLER F., FÄTH K.P. (1991). *Histamine and other biogenic amines in wines.* Proc. Int. Symp. on Nitrogen in Grapes and Wine. Seattle, Washington, USA, 18-19 June 1991, J. M. Rantz (Ed.), p. 185-195. ASEV publ., Davis, CA.
 36. RAPP A. (1989). In "Chemie des Weines". G. Würidig G. and R. Woller (Ed.), pp. 546-549, 590-591. Ulmer GmbH, Stuttgart, Germany.
 37. SIMON-SARKADI L. (2000). *Biogenic amines and their amino acid precursors in food.* In: COST 917: Biogenically active amines in food. D.M.L. Morgan, A. White, F. Sanchez-Jiminez, S. Bardocz, Eds.; Proc. First general workshop, Vol. IV, Publication of the European Communities, EUR 19241 EN; ISBN 92-828-8730-8; pp. 15-19.
 38. SOLEAS G.J., CAREY M., GOLDBERG D.M. (1999). *Method development and cultivar-related differences of nine biogenic amines in Ontario wines.* Food Chem. (64,1): 49-58.
 39. SOUFLEROS E., BARRIOS M.L., BERTRAND A. (1998). *Correlation Between the Content of Biogenic Amines and Other Wine Compounds.* Am. J. Enol. Vitic. (49,3):266-278.
 40. SPONHOLZ W.R. (1991). *Nitrogen Compounds in Grapes, Must and Wine.* Proc. Int. Symp. on Nitrogen in Grapes and Wine. Seattle, Washington, USA, 18-19 June 1991, J. M. Rantz (Ed.), p. 67. ASEV publ., Davis, CA.
 41. ten BRINK B., DAMINK C., JOOSTEN H.M.L.J., Huis in't Veld I.H.J. (1990). *Occurrence and formation of biologically active amines in foods.* Int. J. Food Microbiol., (11):73-84.
 42. VECCHIO A., FINOLI C., CERUTTI G., MÖLLER F. (1989). *Ammine biogene in vini italiani.* Vignevini (16,5):57-59.
 43. VIDAL-CAROU M.C., AMBATILLE-ESPUNYES A., ULLA-ULLA M.C., MARINE-FONT A. (1990). *Hystamine and Tyramine in Spanish Wines: Their Formation During the Winemaking Process.* Am. J. Enol. Vitic. (41,2):160-167.
 44. YEN G.C., CHANDRA T. (1988). *Biogenic Amines in Alcoholic Beverages Produced in Taiwan.* J. Sci. Food Agric. (44): 273-280.
 45. ZEE J.A., SIMARD R.E., L'HEUREUX L., TREMBLAY J. (1983). *Biogenic amines in wines.* Am. J. Enol. Vitic. (34,1), 6-9.